

ИНДУКЦИЯ ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА *IN VITRO* В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ MCF-7

Евгения Викторовна ШАХРИСТОВА¹, Наталья Владимировна РЯЗАНЦЕВА^{1,2},
Елена Алексеевна СТЕПОВАЯ¹, Ольга Леонидовна НОСАРЕВА¹

¹ ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Национальный исследовательский Томский государственный университет
634050, г. Томск, просп. Ленина, 36

Цель исследования. Подбор концентрации пероксида водорода, способной индуцировать развитие окислительного стресса и запускать апоптотическую гибель клеток эпителия молочной железы без элиминации клеток по пути некроза. Материал и методы. Объектом исследования выбраны культура клеток эпителия молочной железы человека (HBL-100) и опухолевая клеточная линия MCF-7 (эпителиоподобная аденокарцинома молочной железы человека). Моделирование окислительного стресса в клетках линии HBL-100 достигалось путем добавления пероксида водорода в конечных концентрациях 0,2; 0,3; 0,5 и 1,0 мМ. Определяли продукцию активных форм кислорода, а также содержание общего, восстановленного, окисленного глутатиона и величину их отношения в эпителиальных клетках линии HBL-100 для сравнительной оценки степени выраженности окислительного стресса с опухолевыми клетками линии MCF-7. Результаты и их обсуждение. Установлена оптимальная концентрация пероксида водорода – 0,3 мМ, при которой зарегистрировано нарастание продукции активных форм кислорода в эпителиоцитах, сопоставимое с их уровнем в опухолевых клетках, а также значение величины отношения восстановленного глутатиона к окисленному, образование максимального количества аннексин-положительных и минимального числа пропидий-положительных клеток.

Ключевые слова: окислительный стресс, апоптоз, опухолевая прогрессия, аденокарцинома молочной железы.

Окислительный стресс лежит в основе патогенеза многих заболеваний, таких как сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, воспалительные, онкологические, а также процессов адаптации и старения [8]. Опухоли молочной железы в настоящее время являются наиболее часто встречающимися злокачественными новообразованиями у женщин, с ежегодно увеличивающимися показателями заболеваемости [3]. Аденокарцинома молочной железы занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости в мире, в том числе и в России [3, 13]. Опухолевая прогрессия сопровождается повышенной выработкой активных форм кислорода (АФК), изменением окислительно-восстановительного баланса клетки с последующим развитием свободнорадикального окисления и нарушением процессов ре-

ализации программированной клеточной гибели [4, 6, 8, 10–12, 15, 22, 24].

Одним из важнейших элементов редокс-системы клеток выступают АФК, выполняющие функции, в том числе, вторичных месенджеров и реализующие лиганд-рецепторные взаимодействия. В число таких лигандов входят факторы транскрипции, гормоны, медиаторы и цитокины [4, 8, 16, 18]. Из-за высокой реакционной способности АФК лишь в низких концентрациях играют роль регуляторных молекул различных клеточных функций, таких как пролиферация, хемотаксис, апоптоз, межклеточный сигналинг, мембранная рецепция [15, 24]. В то же время интенсификация процессов свободнорадикального окисления, нарушение баланса между про- и антиоксидантами приводят к увеличению стационарной

Шахристова Е.В. – к.м.н., руководитель научно-образовательного центра молекулярной медицины, e-mail: shaxristova@yandex.ru

Рязанцева Н.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики, e-mail: office@ssmu.tomsk.ru

Степовая Е.А. – д.м.н., проф. кафедры биохимии и молекулярной биологии, e-mail: muir@mail.ru

Носарева О.Л. – к.м.н., доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии, e-mail: olnosareva@yandex.ru

концентрации АФК, способствующих окислительному повреждению макромолекул (белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот), активации протеолитических ферментов, нарушению структуры мембран и метаболизма Ca^{2+} , что способствует дизрегуляции процессов пролиферации и апоптоза клеток [2, 4, 8, 10, 11, 18, 21]. Для объяснения молекулярных механизмов реализации и регуляции апоптоза опухолевых клеток необходимо учитывать изменения в системе глутатиона, способной снижать цитотоксическое действие АФК при опухолевой трансформации, участвовать в передаче внутриклеточных сигналов, редокс-регуляции функционирования различных белков, в том числе задействованных в реализации запрограммированной клеточной гибели [5, 7, 9].

Клеточные культуры являются удобной модельной системой для исследования окислительного стресса *in vitro* при различных патологических процессах, поскольку их использование позволяет исключить многие неспецифические факторы, сопровождающие индукцию свободнорадикального окисления *in vivo* [17]. При этом пероксид водорода (H_2O_2), применяемый в моделировании окислительного стресса, способен индуцировать апоптотическую гибель клеток [1]. Представляются актуальным направление исследования изменений в системе глутатиона эпителиальных клеток молочной железы при действии различных концентраций H_2O_2 *in vitro* и необходимость поиска концентрации прооксиданта, индуцирующей в них запрограммированную клеточную гибель.

Целью настоящего исследования является экспериментальный подбор оптимальной концентрации H_2O_2 , способной эффективно индуцировать развитие окислительного стресса и запуск апоптотической гибели клеток эпителия молочной железы без их элиминации по пути некроза. Создание модели окислительного стресса в эпителиальных клетках молочной железы позволит установить механизмы регуляции апоптоза клеток, находящихся в состоянии свободнорадикального окисления, в том числе в опухолевых клетках линии MCF-7.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были использованы опухолевая клеточная линия MCF-7 (эпителиоподобная аденокарцинома молочной железы человека) и культура клеток эпителия молочной железы человека (HBL-100), полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии Российской академии наук (г. Санкт-Петербург).

Культивирование опухолевых клеток линии MCF-7 проводили адгезионным методом в полной питательной среде, содержащей 90 % EMEM («ПанЭко», Россия), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («Invitrogen», США), инактивированной при 56 °С в течение 30 мин, 1 % заменимых аминокислот («ПанЭко», Россия), 10 мкг/мл бычьего инсулина («ПанЭко», Россия) и 100 мкг/мл гентамицина («INS», США) при температуре 37 °С и 5 % CO_2 . Клетки линии HBL-100 культивировали адгезионным методом в полной питательной среде, содержащей 90 % RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («Invitrogen», США), 0,3 мг/мл L-глутамин («ПанЭко», Россия) и 100 мкг/мл гентамицина («INS», США) при температуре 37 °С и 5 % CO_2 . Обе клеточные линии поддерживали в логарифмической фазе роста и пересаживали через 3 сут. Индукция окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы достигалась путем добавления H_2O_2 в конечных концентрациях 0,2, 0,3, 0,5 и 1,0 мМ.

Для сравнительной оценки интенсивности окислительного стресса в опухолевых клетках и при индукции H_2O_2 свободнорадикального окисления в эпителиальных клетках молочной железы проводили оценку продукции АФК, концентрации общего, восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона и величины отношения содержания восстановленной формы трипептида к содержанию окисленной. Для оценки интенсивности внутриклеточной продукции АФК методом проточной цитофлуориметрии на проточном лазерном цитометре «BD FaCSCanto II» (BD Biosciences, США) клетки предварительно инкубировали с 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетатом в конечной концентрации 5 мкМ («Sigma Aldrich», США) [19]. В основе метода лежит способность 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата (не флуоресцирующего) проникать в цитоплазму клеток в виде ацетилового эфира, деэстерифицироваться под действием эстераз, что исключает возможность его транспорта из клеток, и приобретать способность флуоресцировать после взаимодействия с H_2O_2 и его метаболитами.

Содержание общего глутатиона, GSH и GSSG определяли методом, предложенным М.Е. Anderson [14], в модификации I. Rahman и соавт. [23]. Его принцип основан на способности GSH взаимодействовать с 5,5-дителиобис-2-нитробензойной кислотой с образованием тионитрофенольного аниона, имеющего характерный максимум поглощения при длине волны 412 нм. При этом образуется GSSG, который восстанавливается специфически глутатионредуктазой, и восстановленная форма трипептида вновь взаи-

действует с 5,5-дителибис-2-нитробензойной кислотой. Скорость образования окрашенного продукта пропорциональна содержанию общего глутатиона. Для определения GSSG пробы предварительно инкубировали с блокатором SH-групп 2-винилпиридином («Wako», Япония), который необратимо связывает в пробе GSH, и поэтому в данном случае скорость образования окрашенного продукта пропорциональна содержанию GSSG.

Определение количества аннексин- и пропи-дий йодид-положительных клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием FITC-меченного аннексина V и пропи-дия йодида («eBioscience», Австрия). Метод основан на способности аннексина V в присутствии ионов Ca^{2+} с высокой аффинностью связываться с фосфатидилсеринном, экспрессированным на внешней стороне цитоплазматической мембраны, что указывает на возможность клетки вступить в апоптоз или воспринимается как сигнал к фагоцитозу. Молекулы пропи-дия йодида способны проникать в поврежденные клетки и интеркалировать между основаниями дефрагментированной ДНК при некрозе клетки.

При оценке полученных данных соответствие выборок нормальному закону распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Вилка. В связи с отсутствием согласия данных с нор-

мальным распределением на уровне значимости $p < 0,01$ и $p < 0,05$ вычисляли средневывборочные характеристики: медиану (Me), первый и третий квартили (Q_1-Q_3). Достоверность различий независимых выборок оценивали с помощью непараметрического критерия для малых групп Краскала – Уолиса – для шести независимых групп исследования. Различия считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$ или $p < 0,01$. Межгрупповой анализ проводили с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе данных, изложенных в современной научной литературе, обращает на себя внимание факт отсутствия моделирования свободнорадикального окисления для различных типов опухолевых клеток. В частности, отсутствуют данные об изменении метаболизма опухолевых клетках эпителиоподобной аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 в присутствии различных концентраций H_2O_2 . Большой интерес представляет изучение дисрегуляции апоптоза в условиях окислительного стресса *in vitro* в опухолевых клетках линии MCF-7.

В результате проведенных нами исследований *in vitro* установлено, что H_2O_2 в конечных

Таблица

Уровень показателей в опухолевых клетках линии MCF-7 и при различных условиях культивирования эпителиальных клеток молочной железы линии HBL-100, Me (Q_1-Q_3)

Показатель	Клеточная линия MCF-7	Конечная концентрация H_2O_2 (мМ) в культуральной среде клеток линии HBL-100				
		Интактные	0,2	0,3	0,5	1,0
Количество аннексин-положительных клеток, %	16,59 (15,60–18,21)	15,88 (15,34–16,97)	21,00* (20,46–21,24)	31,71** (30,78–32,64)	27,93** (27,66–28,20)	14,47* (14,88–15,06)
Количество пропи-дий йодид-положительных клеток, %	4,62 (4,44–4,71)	4,14 (4,05–4,60)	8,91** (8,64–9,18)	9,72** (9,66–9,78)	15,36** (14,82–15,90)	26,04* (24,66–28,29)
Продукция АФК, у. е.	0,74 (0,71–0,77)	0,50* (0,48–0,53)	1,22** (1,18–1,26)	1,47** (1,46–1,56)	2,06** (2,02–2,21)	2,20** (2,18–2,26)
Общий GSH, нмоль/мг белка	3,96 (3,88–4,09)	5,11** (4,83–5,39)	4,94** (4,90–4,99)	4,43* (4,33–4,52)	3,17** (3,12–2,25)	3,10** (3,05–3,36)
GSH, нмоль/мг белка	3,57 (3,52–3,70)	5,11** (4,83–5,39)	4,40** (4,37–4,45)	3,82** (3,80–3,89)	2,59** (2,55–2,77)	2,60** (2,49–2,77)
GSSG, моль/мг белка	0,39 (0,36–0,40)	0,47** (0,47–0,50)	0,53** (0,53–0,55)	0,61** (0,55–0,61)	0,58** (0,58–0,61)	0,50* (0,44–0,59)
GSH/GSSG, у. е.	9,49 (9,22–9,50)	10,79* (10,38–11,25)	8,23 (8,17–8,24)	6,32** (6,25–6,58)	4,42** (4,36–4,43)	5,25** (4,69–5,62)

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей опухолевой линии MCF-7 (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$).

концентрациях 0,2, 0,3, 0,5 и 1,0 мМ вызывает значимое увеличение интенсивности флуоресценции эпителиальных клеток молочной железы человека, нагруженных реагирующим с АФК зондом (2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетатом) по сравнению с опухолевыми клетками линии MCF-7. Интенсивность внутриклеточной флуоресценции зонда повышалась с увеличением концентрации H₂O₂ в инкубационной среде. Максимальное содержание АФК определяли в клетках, культивируемых в присутствии 1,0 мМ H₂O₂ (см. таблицу).

Известно, что окислительный стресс развивается на фоне дисбаланса системы «прооксиданты – антиоксиданты». Учитывая важную роль системы глутатиона в антиоксидантной защите клеток, нами было исследовано влияние H₂O₂ на содержание общего глутатиона, GSH и GSSG в клетках эпителия молочной железы. Установлено, что инкубация эпителиальных клеток линии HBL-100 с H₂O₂ в концентрациях 0,2–1,0 мМ приводила к снижению содержания в них общего глутатиона и GSH, при этом интенсивность сни-

жения концентрации трипептида повышалась с увеличением концентрации прооксиданта в среде культивирования клеток (см. таблицу).

В регуляции редокс-состояния клеток существенную роль играет не содержание общего глутатиона, а соотношение его окисленной и восстановленной форм [20]. Снижение величины отношения GSH/GSSG в настоящее время рассматривается как один из маркеров окислительного стресса в клетках [8]. Нами обнаружено, что соотношение концентраций GSH и GSSG на фоне добавления H₂O₂ (0,2–1,0 мМ) снижалась, достигая минимальных значений при культивировании клеток линии HBL-100 с 1,0 мМ прооксиданта (см. таблицу). Полученные результаты свидетельствуют о том, что концентрация общего глутатиона в эпителиальных клетках молочной железы под действием H₂O₂ уменьшается в основном за счет его восстановленной формы.

Однако следует учитывать, что созданная нами экспериментальная модель разрабатывалась для изучения дисрегуляции апоптоза в условиях окислительного стресса *in vitro* в опухо-

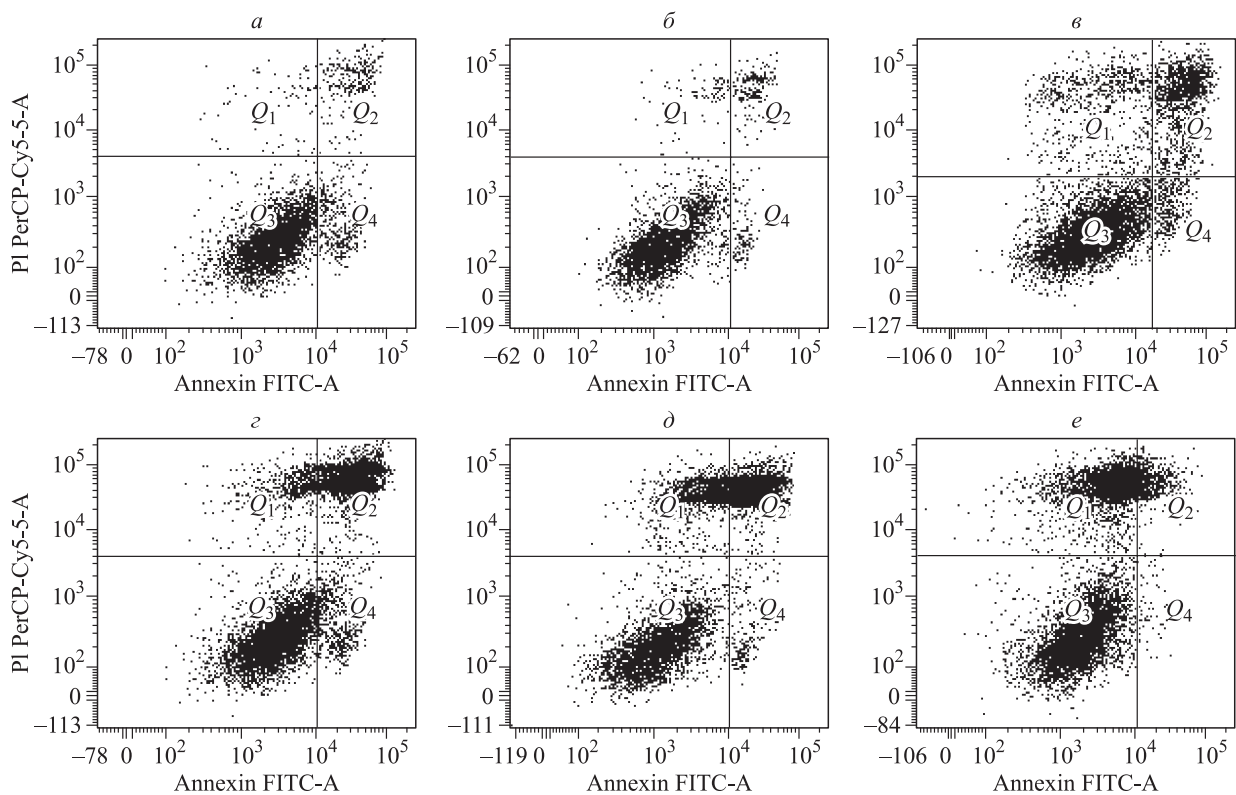


Рис. Содержание аннексин- и пропидий йодид-положительных клеток в зависимости от концентрации пероксида водорода; Annexin FITC-A – канал на проточном цитофлуориметре для аннексина V, меченого флуоресцеинизотиоцианатом; PI PerCP-Cy5-5-A – канал на проточном цитофлуориметре для пропидия йодид и перидинхлорофиллпротеин-цианина-5-5; Q₁ – аннексин V-FITC–, пропидий йодид+; Q₂ – аннексин V-FITC+, пропидий йодид+; Q₃ – аннексин V-FITC–, пропидий йодид–; Q₄ – аннексин V-FITC+, пропидий йодид–; а – опухолевые клетки линии MCF-7; б, в, г, д и е – эпителиальные клетки молочной железы линии HBL-100, культивируемые в отсутствие и в присутствии 0,2, 0,3, 0,5 и 1,0 мМ пероксида водорода соответственно

левых клетках эпителиоподобной аденокарциномы молочной железы человека. Таким образом, необходимо было подобрать такую концентрацию H_2O_2 для моделирования окислительного стресса и индукции апоптоза в эпителиальной клетке, которая создавала бы оптимальные условия для развития свободнорадикальных процессов, сопоставимых с соответствующими показателями в опухолевых клетках линии MCF-7.

В своих экспериментах мы показали, что для моделирования окислительного стресса и индукции апоптоза в клетках эпителия молочной железы с оптимальной конечной концентрацией H_2O_2 является 0,3 мМ, поскольку в этом случае нарастание внутриклеточной продукции АФК и снижение величины отношения GSH/GSSG под действием прооксиданта в клетках линии HBL-100 сопоставимо с соответствующими показателями в опухолевых клетках. В этой же концентрации (0,3 мМ) H_2O_2 индуцирует образование максимального количества аннексин-положительных и минимального – пропидий йодид-положительных клеток (см. таблицу, рисунок). Культивирование эпителиоцитов молочной железы с H_2O_2 в конечных концентрациях 0,5 и 1,0 мМ приводило к увеличению количества пропидий йодид-положительных и снижению числа аннексин-положительных клеток, что отражает активацию процессов гибели клетки по пути некроза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование индукции окислительного стресса *in vitro* в эпителиальных клетках молочной железы линии HBL-100 при действии H_2O_2 в конечных концентрациях 0,2, 0,3, 0,5 и 1,0 мМ позволило определить оптимальную концентрацию прооксиданта в культуральной среде – 0,3 мМ, способствующую развитию апоптотической гибели клеток без элиминации по пути некроза и свободнорадикальных процессов, сопоставимых с таковыми в опухолевых клетках линии MCF-7.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (договор № 4184.2014.7-НШ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архипов С.А., Шкуруний В.А., Зайковская М.В. и др. Разнонаправленные эффекты H_2O_2 на макрофаги и фибробласты в условиях моделирования

окислительного стресса // Современ. наукоемкие технологии. 2010. (8). 76–77.

2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образоват. журн. 2000. 6. (12). 13–19.

3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 г. // Вестн. РОНЦ. 2010. 2. (21). 52–86.

4. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб., 2006. 400 с.

5. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р. и др. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов // Вестн. РАМН. 2010. (3). 46–54.

6. Кондакова И.В., Какурина Г.В., Смирнова Л.П., Борунов Е.В. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами // Сиб. онкол. журн. 2005. (1). 58–61.

7. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомед. химия. 2009. 55. (3). 255–277.

8. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск, 2008. 284 с.

9. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия. 2007. 72. (2). 158–174.

10. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Жукова О.Б. и др. Роль активных форм кислорода и белков семейства Bcl-2 в реализации ФНО- α -опосредованного апоптоза лимфоцитов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2010. 148. (2). 139–142.

11. Старикова Е.Г., Таширева Л.А., Васильева О.А. и др. Участие редокс-сигнализации в опосредованной оксидом азота, монооксидом углерода и сульфидом водорода регуляции апоптоза и клеточного цикла // Бюл. сиб. медицины. 2013. 12. (1). 49–54.

12. Степовая Е.А., Петина Г.В., Жаворонок Т.В. и др. Роль тиолдисульфидной системы в механизмах изменений функциональных свойств нейтрофилов при окислительном стрессе // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2010. (8). 161–165.

13. Чиссова В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2011 г. (заболеваемость и смертность). М., 2013. 289 с.

14. Anderson M.E. Determination of glutathione and glutathione sulfide in biological samples // Methods Enzymol. 1985. (113). 548–555.

15. Brigelius-Flohé R., Flohé L. Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors // Antioxid Redox Signal. 2011. 15. (8). 2335–2381.

16. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. 82. (1). 476–485.
17. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress // *Biochem. Soc. Trans.* 2007. (5). 1147–1150.
18. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view // *Nutr. Rev.* 2012. 70. (5). 257–265.
19. Halliwell B., Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? // *Br. J. Pharmacol.* 2004. 142. 231–255.
20. Khamaisi M., Kavel O., Rosenstock M. et al. Effect of inhibition of glutathione synthesis on insulin action: in vivo and in vitro studies using buthionine sulfoximine // *Biochem. J.* 2000. 349. (2). 579–586.
21. Murphy M.P., Holmgren A., Larsson N.G. et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species // *Cell Metab.* 2011. 13. (4). 361–366.
22. Oberley T.D. Oxidative damage and cancer // *Am. J. Pathol.* 2002. 160. (2). 403–408.
23. Rahman I., Kode A., Biswas S.K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method // *Nat. Protoc.* 2006. 1. (6). 3159–3165.
24. Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling // *Cell Signal.* 2012. 24. (5). 981–990.

INDUCTION OF OXIDATIVE STRESS BY HYDROGEN PEROXIDE *IN VITRO* IN BREAST EPITHELIAL CELLS FOR STUDYING MCF-7 TUMOR CELL LINE APOPTOSIS

Evgenija Viktorovna SHAKHRISTOVA¹, Natal'ja Vladimirovna RYAZANTSEVA^{1,2},
Elena Alekseevna STEPOVAYA¹, Ol'ga Leonidovna NOSAREVA¹

¹ Siberian State Medical University
634050, Tomsk, Moscovski Trakt, 2

² National Research Tomsk State University
634050, Tomsk, Lenin av., 36

The research objective. Selection of the hydrogen peroxide concentration that is able to induce oxidative stress and trigger breast epithelial cell apoptosis without eliminating cells via cell death. Material and methods. The cell culture of human breast epithelium (HBL-100) and MCF-7 tumor cell line (epithelial-like eadenocarcinoma of human breast) have been chosen as the objects of the research. Modeling of oxidative stress in HBL-100 cell line has been achieved by adding hydrogen peroxide in the final concentrations of 0.2; 0.3; 0.5 and 1.0 mMole. The level of reactive oxygen species, the concentration of total, reduced and oxidized glutathione as well as their ratio in HBL-100 epithelial cell line have been evaluated in order to carry out comparative analysis of the degree of oxidative stress with MCF-7 tumor cells line. Results and discussion. The optimal concentration of hydrogen peroxide has been established – 0.3 mMole, at which the increase in the concentration of reactive oxygen species in the cell is registered that may be compared to the one in tumor cells and also may be compared to the value of the reduced glutathione-oxidized glutathione ratio; more over, formation of the maximum amount of annexin V-positive cells and the minimum amount of propidium iodide-positive cells takes place.

Key words: oxidative stress, apoptosis, tumor progression, breast adenocarcinoma.

Shakhristova E.V. – candidate of medical sciences, head of the laboratory of molecular medicine
Ryazantseva N.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for molecular medicine
and clinical laboratory diagnostics, e-mail: office@ssmu.tomsk.ru

Stepovaya E.A. – doctor of medical sciences, professor of the chair for biochemistry and molecular biology,
e-mail: muir@mail.ru

Nosareva O.L. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for biochemistry
and molecular biology, e-mail: olnosareva@yandex.ru